

**KLINISCHE WERTIGKEIT DER PROSTATASPEZIFISCHEN
SAUREN PHOSPHATASE IN DIAGNOSE UND VERLAUFS-
KONTROLLE DES PROSTATAKARZINOMS**

Marcus Obenaus

1984

*Diss
München
1985*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41554826_0068

Aus der Urologischen Klinik und Poliklinik der Ludwig
Maximilians-Universität München (Direktor: Prof.Dr.E.Schmiedt)

KLINISCHE WERTIGKEIT DER PROSTATASPEZIFISCHEN SAUREN
PHOSPHATASE IN DIAGNOSE UND VERLAUFSKONTROLLE DES
PROSTATAKARZINOMS

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten
Medizin an der Ludwig Maximilians-Universität
zu München

vorgelegt von
Marcus Obenaus
aus
Johannesburg
Jahr 1984

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Prof. Dr. Staehler
Berichterstatter:

Prof. Dr. Schmiedt
Mitberichterstatter:

Prof. Dr. Spann
Dekan:

26.02.1985
Tag der mündlichen Prüfung:

M e i n e n E l t e r n

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
A. Einleitung	1
I. Entwicklung der Phosphatasen- bestimmung	4
I.1) Problemstellung	6
II. Methodik der prostataspezi- fischen sauren Phosphatase- bestimmung	16
III. Ergebnisse	29
III.1) Verlaufskontrolle nach Therapie Unterscheidung von Respondern und Non - Respondern	32
III.2) Metastasenfrüherkennung	40
III.3) Vergleich der PSAP im Enzym- immunoassay und der tartrat- hemmbaren Phosphatase als Tumormarker beim Prostata- karzinom	42
B. Diskussion	58
C. Zusammenfassung	63
D. Literaturverzeichnis	67
E. Lebenslauf	73

A. EINLEITUNG

Das Prostatakarzinom ist eines der häufigsten Karzinome des älteren Mannes. Es steht an dritter Stelle der Karzinomstatistik beim Mann. Sektionsbefunde zeigen, daß 36.4% der Prostatae von Männern über 45 Jahren Karzinome aufweisen. Die Karzinomhäufigkeit nimmt mit dem Alter zu. (13)

Das Statistische Bundesamt zeigt, daß etwa 10% aller Todesfälle beim Mann auf ein Prostatakarzinom zurückzuführen sind. Der Altersgipfel liegt hier zwischen dem 65. und 74. Lebensjahr. (5)

Die sauren Phosphatasen haben in den letzten Jahrzehnten als einer der ersten brauchbaren Tumormarker in der Medizin eine große Rolle gespielt.

Die Phosphatasen sind Enzyme, die zur Gruppe der Hydro-lasen gehören. Sie hydrolysieren organische Phosphor-säure - Ester und spalten sie in Ihre Komponenten. Spalten sie einen Monoester, werden sie "Monoesterasen" genannt, bei Diestern "Diesterasen". An dieser Eigen-schaft, Phosphorsäure - Ester zu hydrolysieren, kann

man sie in vitro erkennen. Die Phosphorsäureesterasen werden nach dem pH - Optimum eingestuft, d.h. bei dem pH, bei dem sie die optimale Aktivität entwickeln.

Eine saure Phosphatase (pH - Optimum um 5), eine alkalische Phosphatase (pH - Optimum um 8). (8)

In vivo ist die Dephosphorylierung ein wesentlicher Schritt in einer großen Vielzahl von metabolischen Prozessen. Konventionelle colorimetrische Verfahren haben sich diese Eigenschaft zunutze gemacht. Die unbekannte Enzymmenge wird durch die Menge des Endproduktes bestimmt, die bei der Reaktion über einen bestimmten Zeitraum hinweg entsteht.

Die Prostata ist reich an saurer Phosphatase - Aktivität und enthält verschiedene Isoenzyme. Das Isoenzym Nr. 2 der sauren Phosphatase wird vorwiegend in der Prostata synthetisiert und wird prostata-spezifische-saure Phosphatase genannt. Man findet es nur in geringen Mengen im Pankreas und in Granulozyten. Dieses Enzym ist ein Glykoprotein, sein Molekulargewicht beträgt 102 000 Dalton. (8)

Die prostata-spezifische-saure Phosphatase besitzt charakteristische Antigeneigenschaften, und kann durch Immundiffusion, Counterimmunelektrophorese, Radioimmunoassay (RIA), Enzymimmunoassay (EIA) und Fluoreszenzimmunoassay (FIA) dargestellt werden.

I. Entwicklung der Phosphatasenbestimmung

Die saure Phosphatase wurde erstmals 1924 durch MARTLAND et al. in Erythrozyten bestimmt. 1925 wurde sie im Urin durch DEMUTH und 1931 durch DAVIS in Milz und Leber nachgewiesen. Darüberhinaus fanden 1935 DMOCHOWSKI und ASSENHAYM im Ejakulat und im Prostatagewebe eine saure Phosphatase, die der im Urin vorkommenden Phosphatase ähnelte.

GUTMAN und GUTMAN berichteten 1928 zum ersten Mal über eine erhöhte Enzymaktivität der sauren Phosphatase beim metastasierenden Prostatakarzinom. Seit dieser Entdeckung wurde vermehrt nach Zusammenhängen zwischen den sauren Phosphatasen und dem Karzinom der Prostata gesucht. HUGGINS und HODGES bestätigten 1941 die Ergebnisse von GUTMAN und GUTMAN. Wurde bei der Therapie des Prostatakarzinoms eine Orchiektomie vorgenommen, oder eine kontrasexuelle Behandlung eingeleitet, konnte eine erniedrigte Enzymaktivität der sauren Phosphatase nachgewiesen werden.

Im Laufe der Arbeiten auf diesem Gebiet wurden unterschiedliche Isoenzyme der sauren Phosphatase bekannt.

ABUL-FADL und KING erforschten 1949 die Auswirkungen von unterschiedlichen Enzymaktivatoren und -inhibitoren auf die saure Phosphatase. Hierbei entdeckten sie, daß das prostata-spezifische Isoenzym empfindlich auf Alkohol, Eisen - Ionen und Tartrat reagiert. Diese Reaktion trat bei Isoenzymen anderer Herkunft nicht auf. 1935 gelang es FISHMAN und LERNER den tartrat - labilen Anteil der gesamtsauren Phosphatase zu differenzieren. Seitdem wurde die Tartrathemmung als spezifischer Nachweis für die prostata-spezifische-saure Phosphatase angesehen. Da nur weniger als 15% des tartrat - labilen Anteils der sauren Phosphatase aus der Prostata stammen, ist die klinische Bedeutung dieser Methode begrenzt.

(8)

I.1 Problemstellung

In der Krebsmortalität des Mannes steht das Prostatakarzinom an dritter Stelle hinter dem Bronchialkarzinom und den Magen - Darm - Karzinomen.

1971 wurde die Vorsorgeuntersuchung aller Männer ab 45 Jahren auf Prostatakarzinom durch die Bundesregierung legalisiert und kassenrechtlich programmiert. In die Befunderhebung ist mit der Urinuntersuchung auf Blut auch die Früherfassung der malignen Geschwülste der Nieren und ableitenden Harnwege automatisch integriert.

Die rektale Tastuntersuchung mit dem Finger auf Prostatakarzinom ist ein wichtiger Bestandteil der Vorsorgeuntersuchung. Mit Einführung der Prostatabiopsien und radikaler Operationsmethoden wurde die Unzuverlässigkeit dieser Untersuchung evident. Verschiedenste Erkrankungen der Prostata können zur Konsistenzvermehrung und Knotenbildung führen und ein Karzinom vortäuschen: Entzündungen, Steine, Infarkte und Adenome. Besonders im Frühstadium ist die Diagnose mit dem tastenden Finger allein nicht zu stellen.

Zusammenfassend kann man behaupten, daß in etwa einem Drittel der Fälle mit suspektem Tastbefund ein Prostatakarzinom vorliegt. Diese Tatsache zeigt die Notwendigkeit einer bioptischen Abklärung, ob zytologisch oder histologisch, bei jedem Knoten bzw. jeder Konsistenzvermehrung der Prostata. (19)

Man stimmt im allgemeinen darin überein, daß die Mehrzahl der Prostatakarzinome in den peripheren Regionen der Drüse entstehen, im Gegensatz zu den mittleren und periurethralen Regionen, wo meistens die gutartige Prostatahyperplasie ihren Ursprung hat. (13)

Die meisten Pathologen und Kliniker vertreten die Meinung, daß es eine mehr oder weniger klare Beziehung zwischen dem Tumorstadium und der Aggressivität des Prostatakarzinoms gibt. Trotzdem besteht noch keine einheitliche Einstufungsmethodik für dieses Malignom. (21)

Die verbreitetste Methode ist das ICD - O - Klassifikationssystem, das 1974 auf Empfehlung einer internationalen urologischen Studiengruppe erstellt wurde:

Prätherapeutische klinische Klassifikation: TNM

T Primärtumor

Tis Präinvasives Karzinom

T₁ Intrakapsulärer Tumor, umgeben von normaler Drüse als Tastbefund.

T₂ Der Tumor ist auf die Drüse beschränkt. Weiche Knötchen verformen die Kontur, aber die seitlichen Sulci und Samenblasen sind nicht befallen.

T₃ Tumor mit Ausbreitung über die Kapsel hinaus, mit oder ohne Befall der seitlichen Sulci und/oder der Samenblasen.

T₄ Fixierter Tumor oder Ausbreitung auf benachbarte Strukturen.

Anmerkung: Das Symbol (m) sollte den entsprechenden T - Kategorien beigelegt werden, wenn multiple Tumoren vorhanden sind, z.B. T₂ (m).

T_x Die Minimalerfordernisse zur Bestimmung des Primärtumors liegen nicht vor.

N - Regionäre und juxtaregionäre Lymphknoten:

- N_0 Keine Evidenz für einen Befall der
regionären Lymphknoten.
- N_1 Befall eines einzelnen, homolateralen
regionären Lymphknotens.
- N_2 Befall kontralateraler oder bilateraler
oder multipler regionärer Lymphknoten.
- N_3 Fixierte regionäre Lymphknoten (fixierte
Masse an der Beckenwand, mit einem freien
Raum zwischen der Masse und dem Tumor).
- N_4 Befall juxtaregionärer Lymphknoten.
Anmerkung: Falls die Lymphographie eine
Ausdehnung auf die juxtaregionären Lymph-
knoten anzeigt, wird eine Scalenus - Lymph-
knoten - Biopsie empfohlen.
- N_x Die Minimalerfordernisse zur Beurteilung
der regionären und/oder juxtaregionären
Lymphknoten liegen nicht vor.

M - Fernmetastasen:

M ₀	Keine Evidenz für Fernmetastasen.
M ₁	Fernmetastasen vorhanden.
M _x	Die Minimalerfordernisse zur Feststellung von Fernmetastasen liegen nicht vor.

Postoperative histopathologische Klassifikation:

pTNM

pT _{is}	Präinvasives Karzinom.
pT ₀	Keine Evidenz für einen Primärtumor bei histologischer Untersuchung des Resektates.
pT ₁	Einzelner oder multiple Karzinomherd(e).
pT ₂	Ausgebreitetes Karzinom mit oder ohne Ausdehnung bis zur Kapsel.
pT ₃	Tumor mit Invasion über die Kapsel hinaus und/oder mit Invasion der Samenblasen.

pT_4 Tumor mit Invasion der benachbarten Organe.

pT_x Tumorinvasion kann nicht bestimmt werden.

G - Histopathologisches Grading:

G_1 Hoher Grad der Differenzierung.

G_2 Mittlerer Grad der Differenzierung.

G_3 Geringer Grad der Differenzierung oder
Entdifferenzierung.

G_x Differenzierungsgrad kann nicht bestimmt
werden.

pN - Regionäre und juxta-regionäre Lymphknoten:

Die pN - Kategorien entsprechen den N - Kategorien.

pM - Fernmetastasen:

Die pM - Kategorien entsprechen den M - Kategorien.

A.W. BRUCE führte 1976 anhand von 75 Patienten mit Prostatakarzinom, das histologisch gesichert war, eine umfangreiche Studie zum Staging dieser Erkrankung durch. (13)

Durchschnittlich hatten die 75 Patienten in dieser Studie von BRUCE et al. ein Alter von 67,5 Jahren. In allen Fällen wurden die Standarduntersuchungsmethoden, die Bestimmung der sauren Knochenmarksphosphatase und die Technetium - Skelettszintigraphie durchgeführt. 30 Patienten, die keinen Hinweis auf Knochenmetastasen zeigten, wurden einer pelvinen Lymphangiographie und Lymphadenektomie unterzogen.

Laut BRUCE et al. ist die Laparatomie mit anschließender Lymphadenektomie die sicherste Methode, den Befall der Obturatorius- und der Hypogastricus - Lymphknotengruppe festzustellen. Diese Eingriffe sollten bei allen Patienten vorgenommen werden, die einer radikalen Operation oder einer tiefen Strahlentherapie unterzogen werden sollen. Bei BRUCE et al. waren bei 10 von 11 Patienten mit lymphatischer Metastasierung die Obturatoriuslymphknoten befallen; zu einem hohen Prozentsatz auch die mediale Gruppe der äußeren iliakalen Lymphknoten. Um

eine sichere Einstufung des Prostatakarzinoms zu erreichen, muß man jedoch auch andere Kriterien heranziehen.

Durch rektale Palpation, Gewebshistologie, Ausscheidungsurographie, Bestimmung der sauren Serumphosphatasen und Skelttröntgenaufnahmen versucht man, das Prostatakarzinom einzustufen. Zwischen dem Ergebnis dieser Untersuchungsmethoden und dem tatsächlichen Stadium der Krankheit besteht oft ein nur unzulänglicher Zusammenhang.

Die Einführung der Knochenmarkszytologie, des Ganzkörperszintigrammes, der Lymphangiographie und der pelvinen Lymphadenektomie erlaubte eine bessere Einstufung des Tumors und somit eine bessere Therapieeinleitung.

NELSON et al. zeigte 1973, daß die Knochenmarkszytologie nicht sehr aufschlußreich ist. Die Anzahl maligner Zellen pro Punktat kann man vernachlässigen.
(23)

BRUCE et al. zeigte 1977 in einer anderen Studie, daß

die Lymphangiographie bei der Einstufung des Prostatakarzinoms keine besondere Relevanz hat. (12)

Es ist durchaus ersichtlich, daß die sichere Einstufung dieser Erkrankung von großer Bedeutung ist und mit einigen Schwierigkeiten verbunden ist. Diese Probleme müssen jedoch im Interesse des Patienten hinsichtlich einer raschen Entscheidung bezüglich der geeigneten Therapie gelöst werden. Bei Prostatakarzinom - Patienten, die aufgrund des Alters und der oft schon fortgeschrittenen Tumorkachexie in einer schlechten körperlichen Verfassung sind, können radikale Einstufungsmethoden, wie die oben beschriebene Laparatomie mit Lymphadenektomie, lebensbedrohlich sein. Darüberhinaus sind diese Verfahren recht aufwendig und kostenintensiv.

In der letzten Zeit richtete sich das Augenmerk immer mehr auf labordiagnostische Verfahren. Sie sind weniger kostenintensiv und stellen für den Patienten keinerlei körperliche Belastung dar. Man benötigt außerdem keinen größeren Geräteaufwand, und kann diese Verfahren auch in der freien Praxis zur Frühdiagnose

im Rahmen der Vorsorgeuntersuchungen und vor allem zur späteren Verlaufskontrolle von Prostata - Karzinom - Patienten anwenden.

Die Aufgabe dieser Arbeit ist, die Sensitivität und Spezifität des Enzygnost^R - PSAP Enzymimmunoassays der Behring - Werke zu untersuchen, und die klinische Wertigkeit der PSAP (prostata-spezifische saure Phosphatase) in Diagnose und Verlaufskontrolle des Prostatakarzinoms darzustellen.

II. Methodik der prostataspezifischen sauren Phosphatase- bestimmung.

Mit dem Doppler - Antikörperprinzip arbeiten derzeit alle auf dem Markt befindlichen Radioimmunoassays (RIA), was einem kompetitiven Assay entspricht. Um die Bindungsstellen eines spezifischen Antikörpers konkurrieren die zu bestimmende saure Phosphatase aus dem Patienten- oder Standard - Serum mit dem Jod¹²⁵ - markierten sauren Phosphatase - Antigen. Je mehr saure Phosphatase in der zu bestimmenden Probe vorhanden ist, desto weniger Jod¹²⁵ - markierte saure Phosphatase wird vom Antikörper gebunden. Der unter Wirkung des ersten Antikörpers und des Enzyms zustandegekommene lösliche Immunkomplex wird nun mit Hilfe eines zweiten Antikörpers unlöslich und fällt aus. Nun mißt man die im Antikörper - Präzipitat gebundene Aktivität und wertet dann anhand einer Standardkurve aus. (7)

(Abb.: 1)

Der Enzymimmunoassay (EIA) arbeitet nach dem Sandwich-Testprinzip. Der Antikörper gegen die prostataspezifische saure Phosphatase ist hier an eine Festphase gebunden. Dieser Erst - Antikörper bindet das in der

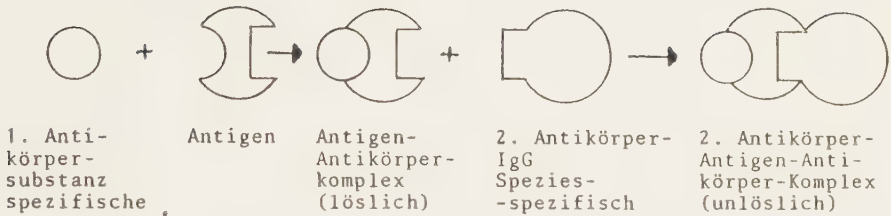


Abb.: 1

Methodisches Prinzip des Radioimmunoassays nach dem Doppel-Antikörper-Verfahren.
 Aus Sokolowski/Wood RIA in Theorie und Praxis.
 Ein Laborbuch für Anfänger und Fortgeschrittene
 Byk-Mallinkrodt, Dietzenbach (1980)

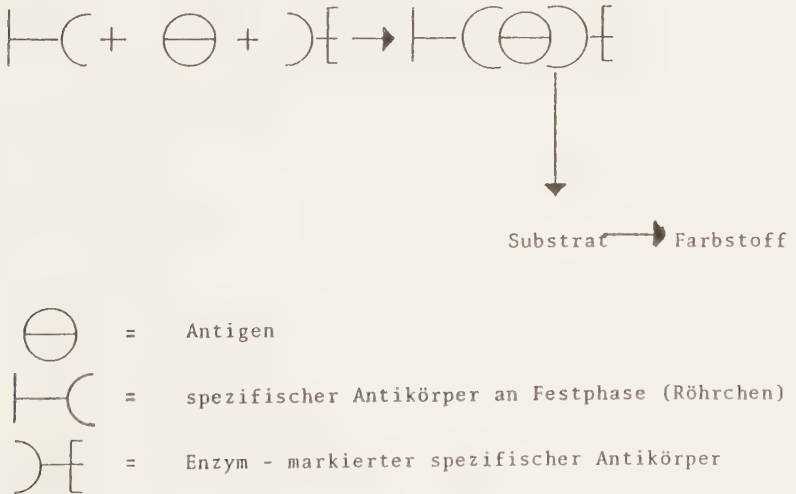


Abb.: 2

Methodisches Prinzip des Enzym-Immunoassays.
 Aus Bestimmung der sauren Phosphatase beim PCa.
 H.-W. Bauer, V. Walther, E. Schmiedt
 Fortschritte d. Med.: Nr. 34, 98 Jg., 1980

zu untersuchenden Probe enthaltene Antigen. Der somit entstandene Immunkomplex wird durch einen weiteren Antikörper, der Peroxydase - markiert ist, fixiert. Rückschlüsse auf das Antigen werden über den Nachweis der Peroxydase nach Substratzugabe gemacht. (7)

(Abb.: 2)

Wenn wir nun die Analyseverfahren Enzymimmuno- und Radioimmunoassay vergleichen wollen, müssen wir folgende Methodenkriterien heranziehen: Nachweisgrenze, Spezifität, Reproduzierbarkeit und Richtigkeit.

- Die Nachweisgrenze des Enzymimmunoassays entspricht ungefähr der des Radioimmunoassays.
- Die Spezifität ist in etwa vergleichbar; sie ist abhängig von den immunologischen Komponenten.
- Die Reproduzierbarkeit ist vergleichbar.
- Die Richtigkeit entspricht ebenfalls der des Radioimmunoassays.

Man kann mit diesen Methodenkriterien nicht mit Sicherheit einen Leistungsunterschied der beiden Verfahren zeigen.

Nimmt man das Kriterium der instrumentellen Analytik hinzu, bleibt trotzdem die Pattsituation bestehen.

Der Meßbereich erstreckt sich in beiden Fällen nur über einen begrenzten dynamischen Bereich von maximal ca. 1 : 50.

In der Tabelle (Abb. 3) wurden deshalb weitere Kriterien zusammengetragen, die so formuliert wurden, daß eine im wertenden Sinne positive Antwort eine durch ein Plus - Zeichen dargestellte Ja - Antwort ist. Das Plus- oder Minus - Zeichen in Klammern bedeutet ja oder nein mit Einschränkungen. Man kann die positiven sowie die negativen Antworten addieren, Klammerwerte zählen einen halben Punkt, und erhält somit einen allerdings sehr groben Anhalt für die Gesamtbeurteilung. Eine Gewichtung der einzelnen Kriterien erfolgte nicht.

Die Summierung ergibt folgende Gesamtbewertung:

Der Enzymimmunoassay führt mit 11 Plus- zu 7 Minuspunkten gegenüber

dem Radioimmunoassay, der nur 7 Plus- zu 11.5 Minuspunkten erreicht. (48)

Abb.: 3: Vergleich von Enzym- und Radioimmunoassay.

	EIA	RIA
- vielerlei Markierungsmittel möglich	+	-
- Markierung leicht möglich	-	+
- 2. Reaktion für Meßvorgang unnötig	-	+
- breite Anwendbarkeit	+	+
- Arbeitsschritte einfach	+	+
- Analysezeit kurz	(+)	-
- keine exakte Temperaturkonstanz während der Analyse nötig	+	+
- keine Trennung nötig	-	-
- Automatisierbarkeit leicht	(-)	(-)
- Zahl der Trennverfahren weniger begrenzt	-	+
- unspezifische Störmöglichkeit geringer	-	+
- keine Gefahr durch ionisierende Strahlen	+	-
- keine besondere ärztliche Überwachung des Personals nötig	+	-
- Reagenzien verhältnismäßig billig	-	-
- Reagenzien haltbar 6 Monate und länger	+	-
- Umgangsgenehmigung nicht erforderlich	+	-
- besondere räumliche Maßnahmen nicht erforderlich	+	-
- Abfallbeseitigung problemlos	+	-
- Gerätekosten niedrig	+	-

Aus: EIA - RIA Alternative oder Ergänzung
W. Vogt, Thieme Verlag Stuttgart 1979

Beschreibung des Enzygnost^R - PSAP Enzym - Immuno -
Assay der Firma Behring (9)

1. Zusammensetzung der Enzygnost^R PSAP - Packung:

PSAP = Prostata-specific Acid Phosphatase

a) Anti - Human - PSAP - Röhrchen:

Mit Antikörper von der Ziege beschichtete Röhrchen
in Spezialhalterung.

b) Anti - PSAP/POD - Konjugat:

Anti - Human - PSAP, Peroxydase konjugiert,
vom Kaninchen.

c) Konjugat - Puffer (PSAP)

d) PSAP - Standard - Serum S₁ bis S₅:

(nominell 0.3, 1, 3, 10, 30 µg/l)

PSAP im Human - Serum;

Konservierungsmittel: Na-Acid, max. 1 g/l.

e) PSAP - Kontroll - Serum:

PSAP im Human - Serum;

Konservierungsmittel: Na-Acid, max. 1 g/l.

f) Inkubationsmedium:

Konservierungsmittel: Na-Acid, max. 1 g/l.

g) Waschlösung POD (Konzentrat):

Tween - haltige Phosphat - Pufferlösung.

h) Puffer - Substrat POD:

Wasserstoffperoxyd (0.3 g/l) in Citrat - Phosphat -
Pufferlösung;

Konservierungsmittel: Natriumtimerfonat, max. 0.1 g/l.

i) Chromogen POD:

o - Phenylendiomin - dihydrochlorid, POD.

j) Stopplösung POD:

0.5 N Schwefelsäure.

k) Abklebefolien

2. Testprinzip:

Enzygnost^R - PSAP ist ein Enzymimmunoassay zur in vitro - Bestimmung der Human - PSAP nach dem "Sandwich - Testprinzip".

Während der ersten Inkubation bindet sich die in der Probe vorhandene PSAP an Antikörper, die an der Oberfläche von Kunststoffröhrchen fixiert sind. Nach Auswaschen werden in einer zweiten Reaktion Peroxydase - konjugierte Antikörper gegen Human - PSAP an die noch freien Antigen - Determinanten gebunden. Die überschüssigen Enzym - konjugierten Antikörper werden ausgewaschen; man bestimmt anschließend die gebundene Enzymaktivität. Die enzymatische Umsetzung von Wasserstoffperoxyd und Chromogen wird durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure unterbrochen. Die der Konzentration der PSAP proportionale Farbsintensität wird photometrisch bestimmt. Der diagnostisch wichtige Konzentrationsbereich von 0.3 - 30 ug/l wird durch die in der Packung enthaltenen Standard - Seren abgedeckt. Bei höheren Konzentrationen muß die Probe verdünnt getestet werden. Die Nachweisgrenze liegt bei ca. 0.2 ug/l (Konzentration in der Probe).

3. Erforderliche Geräte:

a) Kolbenhub-Pipetten:

100 μ l, 200 μ l, 1000 μ l;

(zur Probenverdünnung 50 μ l, 450 μ l bzw. 500 μ l)

b) Waschvorrichtung:

Dispenser 2 ml oder Waschgerät für Immuno - Assays
(Behring-Werke), Absaugpumpe.

c) Photometer:

geeignet für Probenvolumen 1 ml, z.B. mit Halb-
mikro - Absaugeküvette oder Durchflußküvette,
1cm Schichtdicke, Meßlänge 490 bis 500 nm,
vorzugsweise 492 nm.

4. Tesdurchführung:

Alle Bestimmungen sind im Doppelansatz durchzuführen.

- a) Benötigte Anzahl von Röhrchen feststellen
(12 Röhrchen für Standard- und Kontroll - Serum
und je 2 Röhrchen für ein Patienten - Serum).
- b) In jedes Röhrchen zuerst 100 μ l des Inkubations-
mediums einfüllen, dann in die Röhrchen 1 und 2
je 100 μ l des Standard - Serums S_1 , in Röhrchen 3
und 4 je 100 μ l des Standard - Serums S_2 usw. und
in Röhrchen 11 und 12 je 100 μ l Kontrollserum
pipettieren, ab Röhrchen 13 je 100 μ l der Proben
einfüllen.
- c) Mit selbstklebender Folie abdecken und 2 Stunden
($^{+}$ 10 Min.) bei $+ 20^{\circ}\text{C}$ bis $+ 25^{\circ}\text{C}$ inkubieren.
- d) Selbstklebende Folie abziehen, alle Röhrchen ab-
saugen, ca. 2 ml verdünnte Waschlösung einfüllen,
nochmals absaugen, Waschvorgang einmal wieder-
holen, danach noch einmal absaugen um Waschlösungs-
reste zu entfernen.

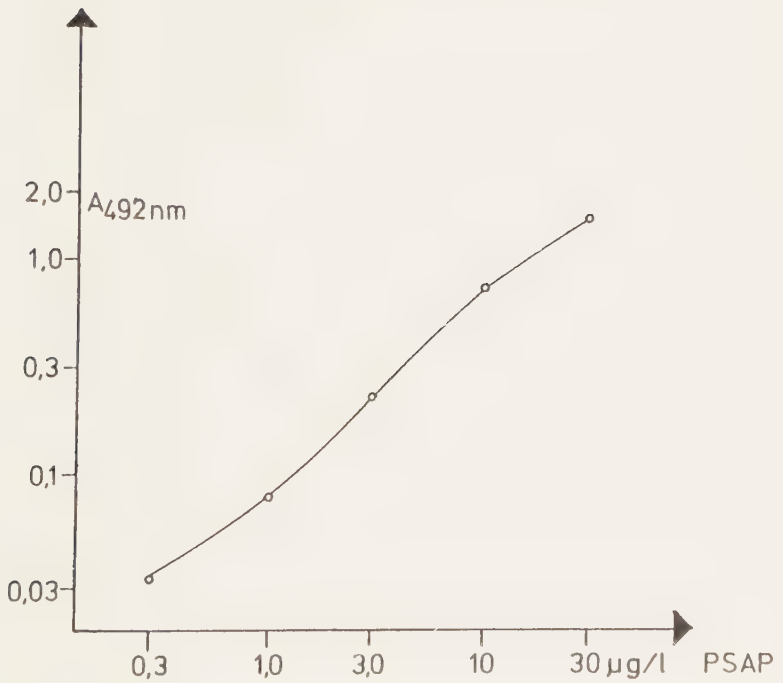
- e) 200 μ l Konjugat - Lösung in jedes Röhrchen einfüllen, Röhrchenwände möglichst nicht benetzen.
- f) Mit neuer Selbstklebefolie abdecken, 2 Stunden ($^{+}_{-}$ 10 Min.) bei + 20° C bis + 25° C inkubieren.
- g) Folie entfernen, alle Röhrchen leersaugen und wie schon beschrieben dreimal waschen, danach noch einmal absaugen.
- h) 10 ml Puffer - Substrat in eine Chromogen - Abfüllung geben, unter Schütteln lösen.
- i) 200 ml der Chromogen - Puffer - Substrat - Lösung einfüllen.
- j) Mit neuer Folie abdecken, 30 Min. ($^{+}_{-}$ 2 Min.) bei + 20° C bis + 25° C lichtgeschützt inkubieren.
- k) Folie entfernen, 1000 μ l Stopplösung zugeben, dabei gleichen Zeittakt wie beim Dosieren der Chromogen - Puffer - Substrat - Lösung einhalten.
- l) Innerhalb einer Stunde gegen aqua dest. photometrieren, Meßwellenlänge vorzugsweise 492 nm.

5. Auswertung:

Nach Berechnung der Extinktionsmittelwerte

Bezugskurve erstellen. (Abszisse: Konzentration 0,3 bis 30 $\mu\text{g/l}$, Ordinate: Extinktion 0 - 2).

Aus der Referenzkurve anhand der einzelnen Extinktionen PSAP-Konzentration des Kontrollserums und der zu untersuchenden Proben ablesen.



Bei Extinktionen, die oberhalb des höchsten Standards liegen, müssen die Proben nach Verdünnung nochmals untersucht werden. Die aus der Referenzkurve abgelesene Konzentration muß mit dem Verdünnungsfaktor multipliziert werden.

6. Testcharakteristika:

a) Testempfindlichkeit:

Die untere Nachweisgrenze (oder Testempfindlichkeit), ausgedrückt als das 3 - fache der Standardabweichung bei 0, $\mu\text{g/l}$ beträgt 0.2 $\mu\text{g/l}$.

b) Präzision und Richtigkeit:

Im Bereich zwischen 1.6 und 19 μl lag der Variationskoeffizient in der Serie zwischen 4.5% und 5.5%, während für den Variationskoeffizienten von Tag zu Tag Werte zwischen 7.5% und 8.7% gefunden wurden. Nach Zusatz von 10 $\mu\text{g/l}$ PSAP in Seren und Plasmen von 10 Blutspendern betrug die Wiederfindungsrate des zugesetzten Antigens $90 \pm 5\%$.

III. Ergebnisse

Mit dem Enzymimmunoassay Enzygnost^R - PSAP wurden von 225 Patienten insgesamt 1252 Serumproben untersucht. 155 Patienten hatten ein gesichertes Prostatakarzinom, 70 Patienten hatten ein Prostataadenom. Bei 108 Patienten konnte eine Verlaufskontrolle durchgeführt werden. Im Rahmen der Diagnostik wurde die Untersuchung bei 47 Patienten durchgeführt. Ferner wurde die prostata - spezifische saure Phosphatase bei einer Kontrollgruppe von 58 gesunden Probanden bestimmt. Ein Vergleich zwischen Serum- und Plasmapwerten wurde anhand von 13 Proben durchgeführt.

Die Patienten wurden in folgende Gruppen aufgeteilt: Tumorstadien, Differenzierungsgrad, erfolgte bzw. nicht erfolgte Lymphknotenmetastasierung, Fernmetastasierung und Lymphknotenmetastasen plus Fernmetastasen.

Hierbei wurden 1.50 ng/ml als obere Normgrenze gesetzt.

Erhöhte Serumwerte hatten:

2 von 22 Patienten mit dem Tumorstadium T₁

16 von 37 Patienten mit dem Tumorstadium T₂

21 von 37 Patienten mit dem Tumorstadium T₃

25 von 29 Patienten mit dem Tumorstadium T₄

6 von 25 Patienten mit dem Differenzierungsgrad G₁

23 von 51 Patienten mit dem Differenzierungsgrad G₂

38 von 54 Patienten mit dem Differenzierungsgrad G₃

18 von 29 Patienten mit Lymphknotenmetastasen

2 von 32 Patienten ohne Lymphknotenmetastasen

12 von 12 Patienten mit Fern- und Lymphknotenmetastasen

10 von 70 Patienten mit Prostataadenom

0 von 58 gesunden Probanden

(siehe Abb.: 5, 6, 7, 8, 9)

Im Rahmen der Verlaufskontrolle wurde mit dem Enzym-immunoassay die prostata - spezifische saure Phosphatase bei 81 Respondern (Tumor ohne Progredienz nach Therapieeinleitung) und bei 27 Non - Respondern (Tumor mit Progredienz nach Therapieeinleitung) bestimmt und verglichen.

(siehe Abb.: 10)

Erhöhte Serumwerte hatten:

3 von 81 Respondern

27 von 27 Non - Respondern

Bei dem Vergleich zwischen den Serum- und Plasmawerten wurden die Proben von 13 Patienten untersucht. Hierbei lag der Serumwert im Durchschnitt um 0.99 ng/ml höher als der Plasmawert.

Bei der viskösen Metamorphose der Granulozyten im Rahmen der Blutgerinnung kommt es zu einer Freisetzung des Isoenzyms der sauren Phosphatase. Dies erklärt die deutlich höheren Enzymkonzentrationen im Serum verglichen mit den Konzentrationen im Plasma.

III. 1) Verlaufskontrolle nach Therapie

Unterscheidung von Respondern und Non - Respondern

Das Ansprechen auf die Therapie war bei der Bestimmung der prostata - spezifischen sauren Phosphatase leicht zu erkennen. Somit konnte man die Therapieversager bald feststellen.

Erhöhte Serumwerte hatten:

3 von 81 Respondern, das bedeutet eine Spezifität von 96.30% im Hinblick auf das Erkennen des Ansprechens auf die Therapie.

27 von 27 Non - Respondern, das bedeutet eine Sensitivität von 100% im Hinblick auf das Erkennen von Therapieversagern.

Diese Ergebnisse besagen, daß der Enzymimmunoassay auf dem Weg zu einem zwar erstrebten, aber bislang nicht erreichten Ziel ein paar Schritte vorangekommen ist. Der behandelnde Arzt kann rechtzeitig Therapieversager erkennen und in einer für den Patienten zumutbaren Zeit seinen Therapieplan ändern.

Die Möglichkeit, mit dem Enzymimmunoassay eine stichhaltige Verlaufskontrolle der Prostatakarzinom - Patienten durchzuführen, geht aus den folgenden drei Therapieverlaufs - Schemata hervor.

(siehe Abb.: 4.1, 4.2, 4.3)

Abb.: 4.1

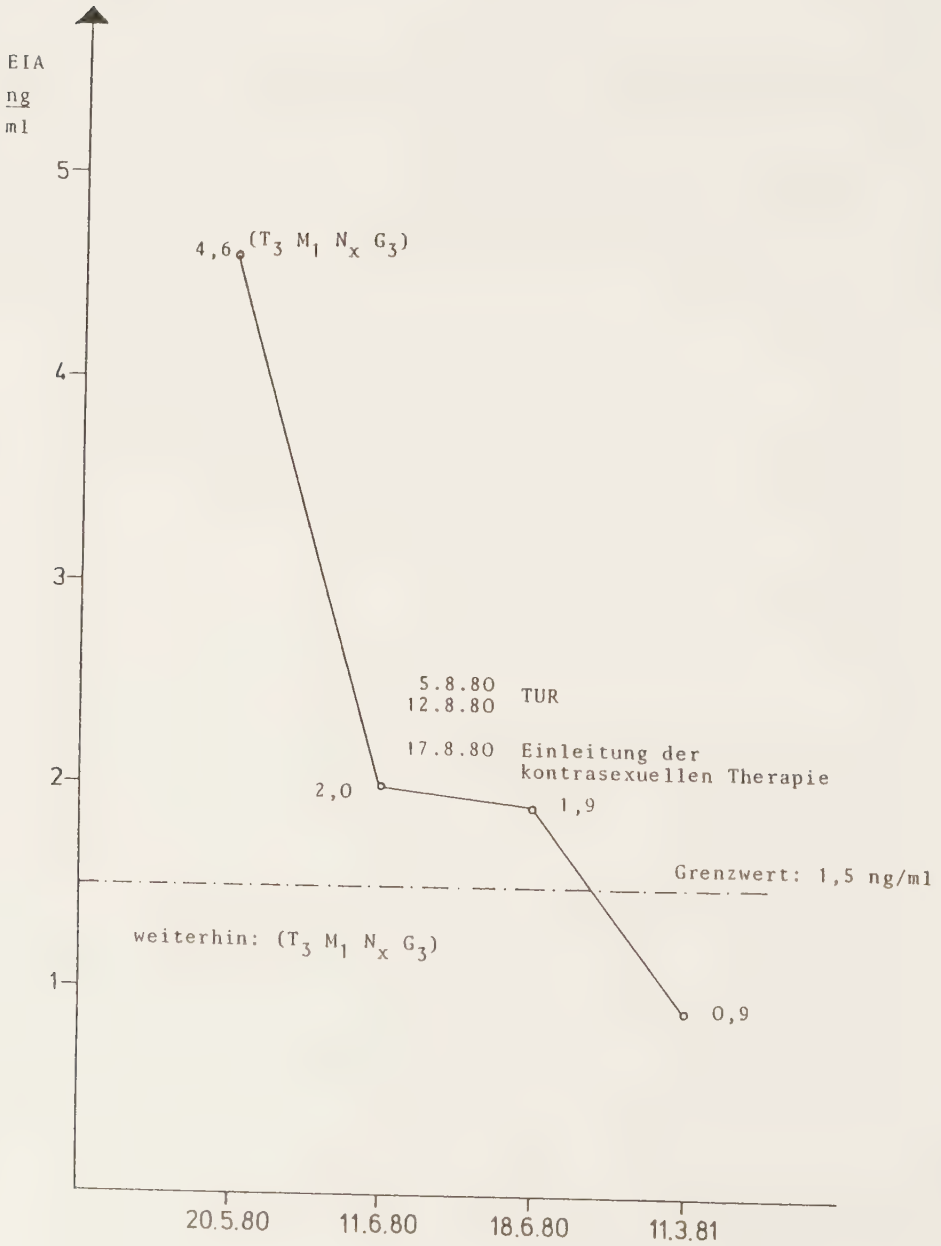


Abb.: 4.2

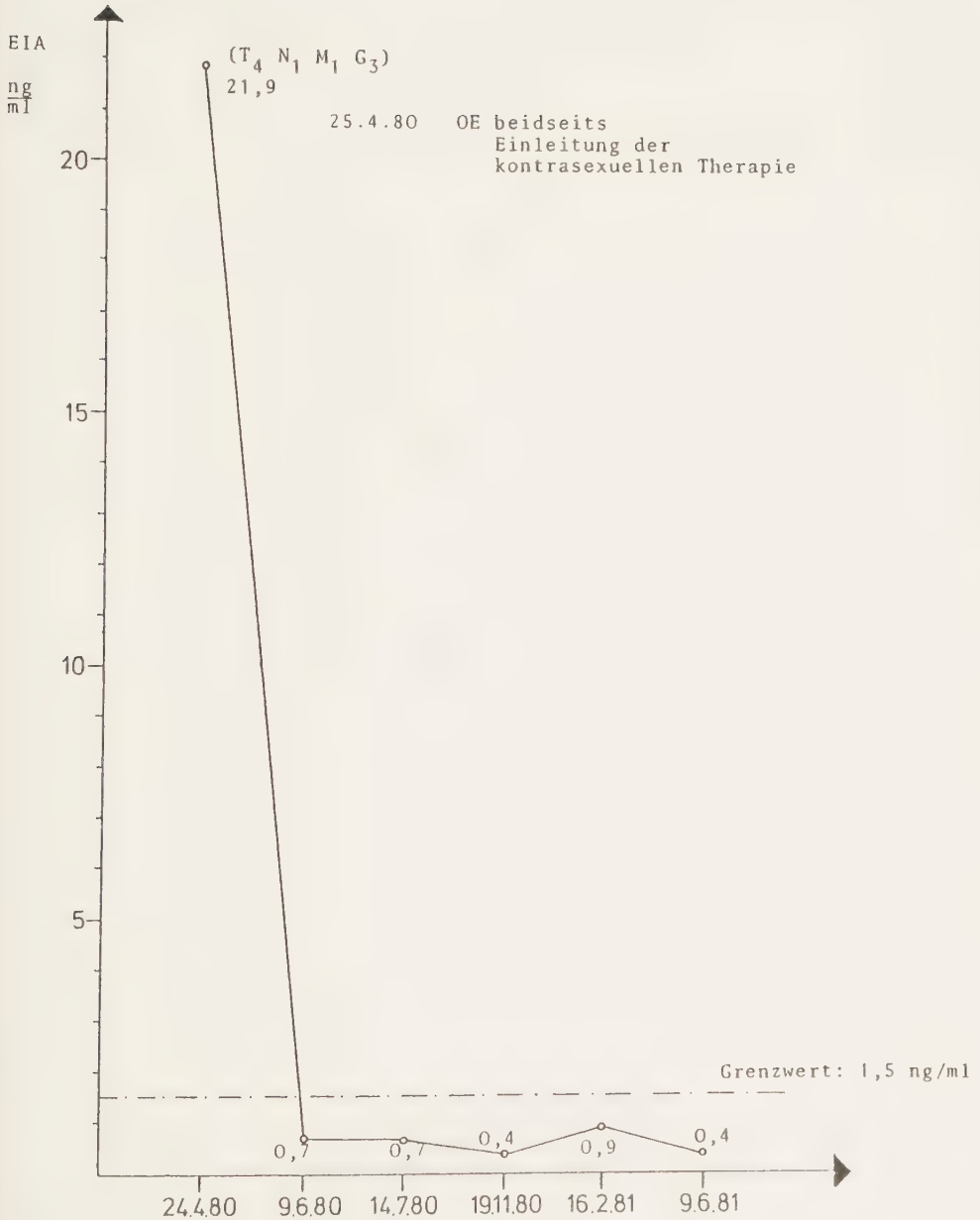


Abb.: 4.3

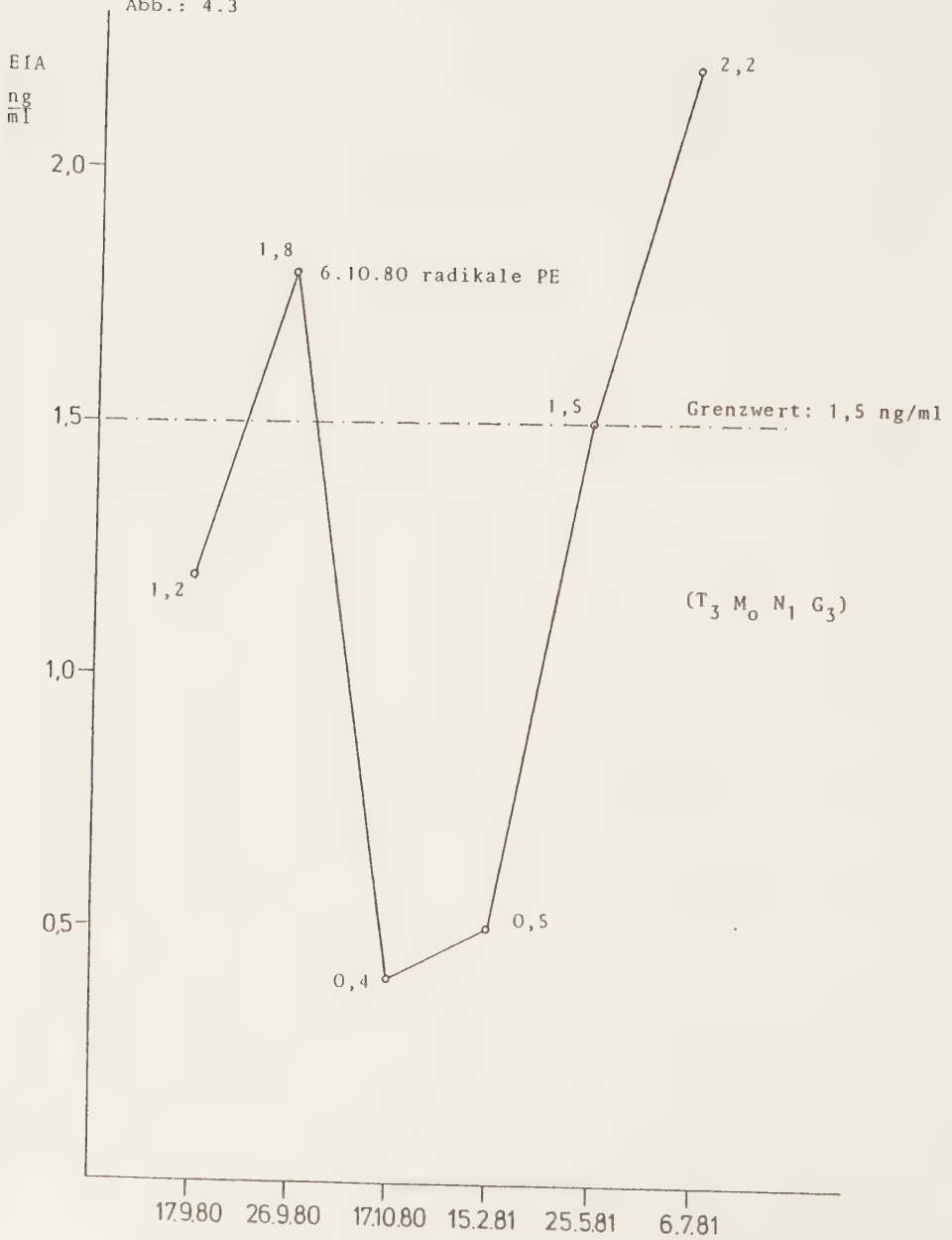


Abb.: 5

PSAP
(ng/ml)

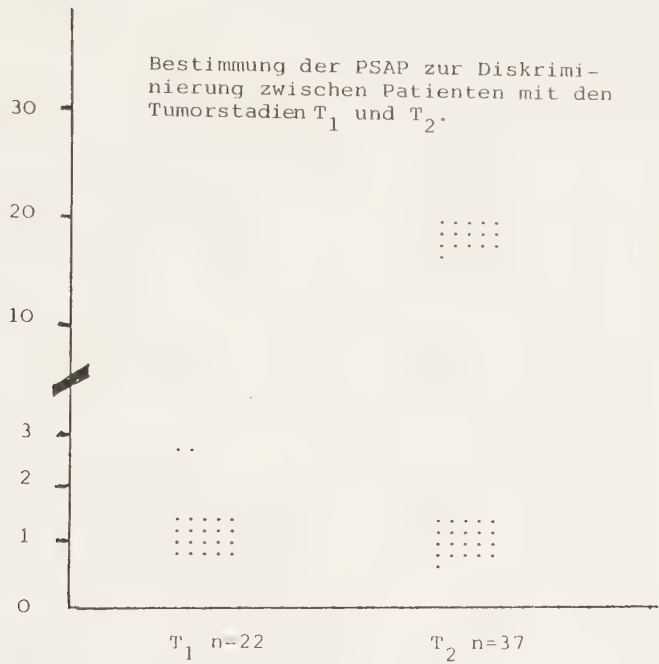
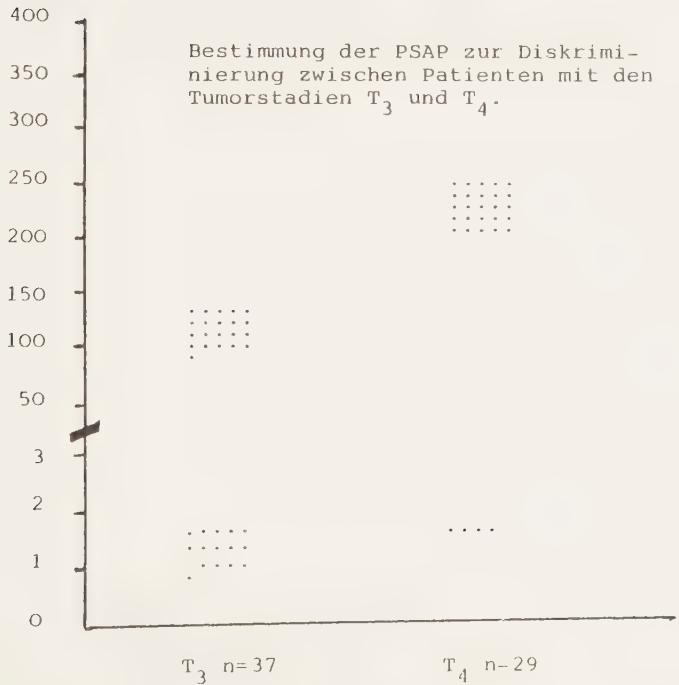


Abb.: 6

PSAP
(ng/ml)



PSAP
(ng/ml)

Abb.: 7

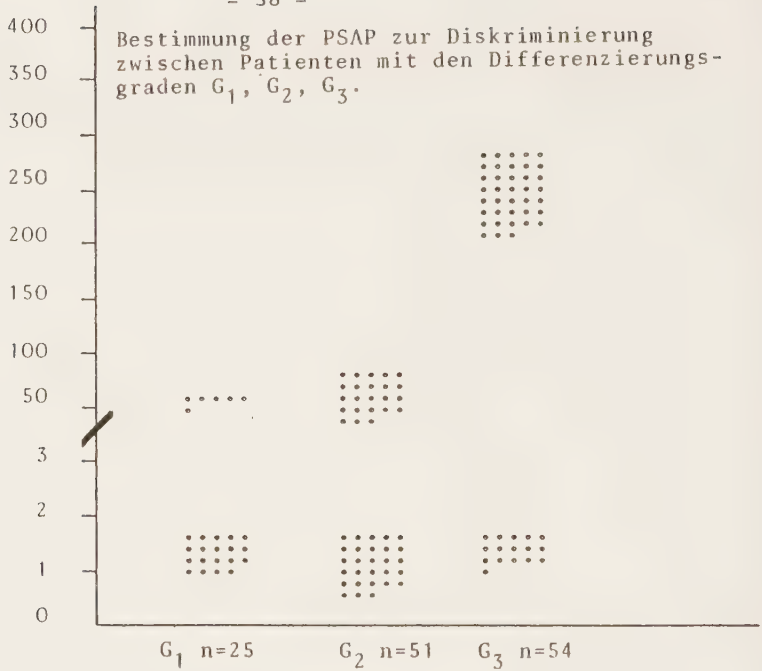
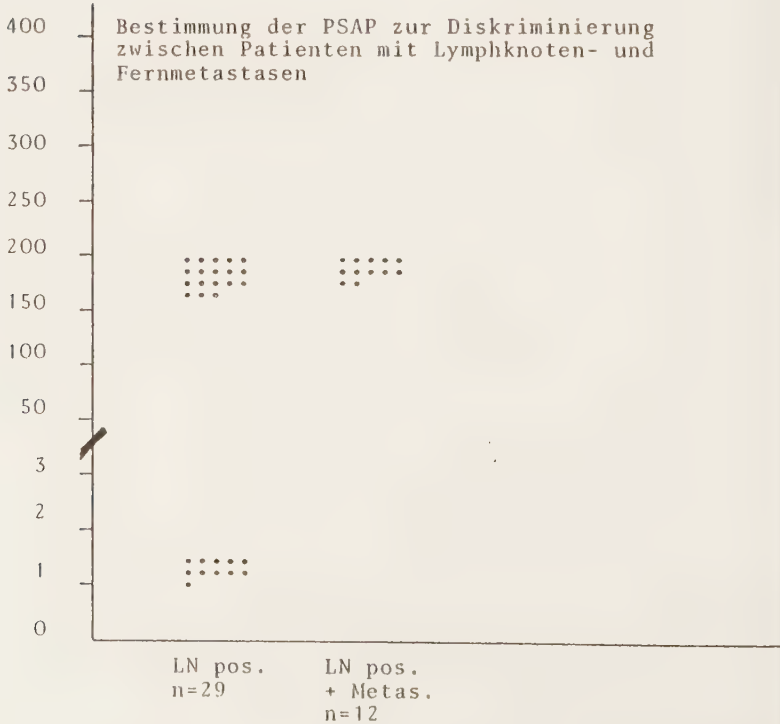


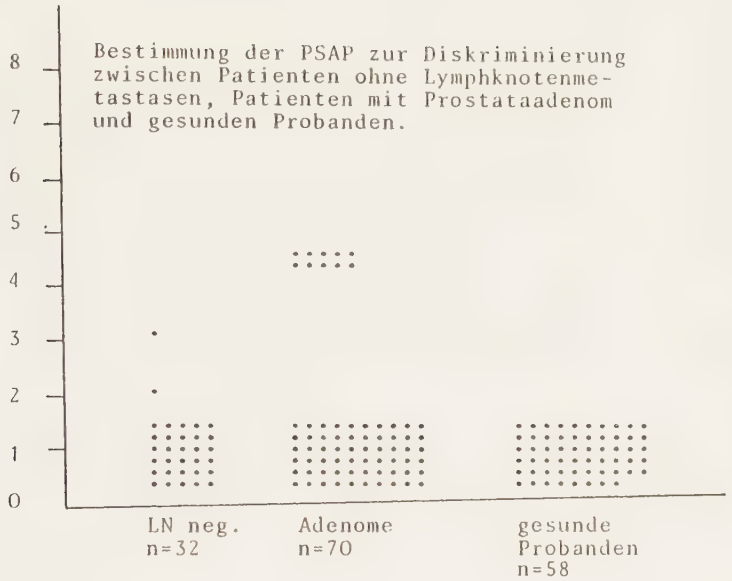
Abb. 8

PSAP
(ng/ml)



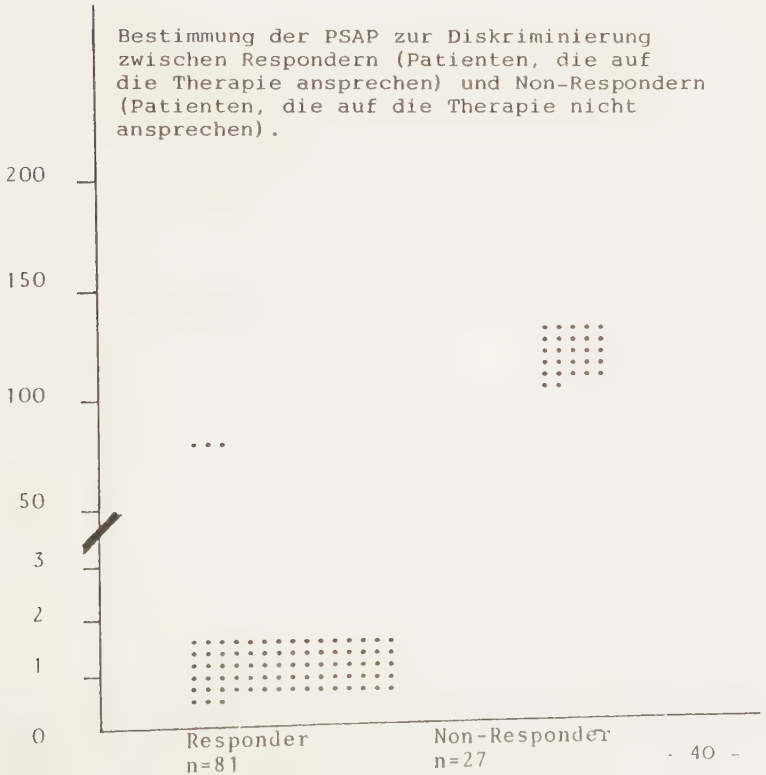
PSAP
(ng/ml)

Abb.: 9



PSAP
(ng/ml)

Abb.: 10



III. 2) Metastasen - Früherkennung

Die Bestimmung der prostata - spezifischen sauren Phosphatase im Knochenmark wird durchgeführt, um eine Skelettmetastasierung früher zu erkennen, als mit der Bestimmung der Serumwerte.

Auch hier erweist sich der Enzymimmunoassay als klare Alternative zum Radioimmunoassay.

Erhöhte Werte hatten:

33 von 41 Patienten mit Skelettmetastasen; das bedeutet eine Sensitivität von 80.49% im Hinblick auf das Erkennen von Skelettmetastasen.

12 von 12 Patienten mit Skelettmetastasen plus Lymphknotenmetastasen; das bedeutet eine Sensitivität von 100% im Hinblick auf das Erkennen von Skelett- plus Lymphknotenmetastasen.

Zusammen mit den nuklearmedizinischen Untersuchungsmethoden kann man auf dem Gebiet der Erkennung von Skelett- und Lymphknotenmetastasen beim Prostatakarzinom eine 100% - ige Sensitivität erzielen.

In seiner Anfangsphase war der Enzymimmunoassay dem Radioimmunoassay unterlegen. In der Zwischenzeit wurden die Testkits erheblich verbessert. Die Ergebnisse dieser Arbeit besagen, daß der Enzymimmunoassay den Radioimmunoassay eingeholt, wenn nicht sogar übertrumpft hat.

Beim Vergleich der Vor- und Nachteile beider Verfahren kommt man zu dem Schluß, daß heutzutage der Enzymimmunoassay für die breite Anwendung im Krankenhaus und in der freien Arztpraxis eine klare Alternative darstellt. (siehe Vergleich von Radio- und Enzymimmunoassay unter Kapitel 2) Methodik der prostata - spezifischen sauren Phosphatasebestimmung).

III. 3) Vergleich der PSAP im Enzymimmunoassay und
der tartrathemmbar Phosphatase als Tumor-
marker beim Prostatakarzinom.

1935 gelang es FISHMAN und LERNER den tartrat-labilen Anteil der gesamtsauren Phosphatase zu differenzieren. Seitdem wurde die Tartrathemmung als spezifischer Nachweis für die prostata-spezifische saure Phosphatase angesehen. Da nur weniger als 15% des tartrat-labilen Anteils der sauren Phosphatase aus der Prostata stammen, ist die klinische Bedeutung dieser Methode begrenzt.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden ebenfalls die Serumspiegel der tartrathemmbar Phosphatase untersucht. Auch hier wurden die Patienten in folgende Gruppen aufgeteilt: Tumorstadien, Differenzierungsgrade, erfolgte bzw. nicht erfolgte Lymphknotenmetastasierung, Fernmetastasierung und Lymphknotenbefall plus Fernmetastasen.

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Sensitivität bei den Tumorstadien:

<u>Tumorstadien</u>	<u>Sensitivität</u>	
	<u>tartrathemmbar</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
T ₁	3.6%	9.1%
T ₂	8.3%	43.24%
T ₃	14.8%	56.76%
T ₄	40.4%	86.21%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Sensitivität bei den Differenzierungsgraden:

<u>Differenzierungs-</u> <u>grade</u>	<u>Sensitivität</u>	
	<u>tartrathemmbar</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
G ₁	2.5%	24.0%
G ₂	10.7%	45.09%
G ₃	33.0%	70.37%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Sensitivität bei Patienten mit Lymphknotenmetastasen:

<u>Sensitivität</u>		
	<u>tartrathemmbar</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
Patienten mit Lymphknotenmetastasen	22.7%	62.07%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Spezifität bei Patienten ohne Lymphknotenmetastasen:

<u>Spezifität</u>		
	<u>tartrathemmbar</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
Patienten ohne Lymphknotenmetastasen	95.9%	93.75%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Sensitivität bei Patienten mit Fern- und Lymphknotenmetastasen:

	<u>Sensitivität</u>	
	<u>tartrathemm- bare Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
Patienten mit Fern- und Lymph- knotenmetastasen	46.4%	100%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Spezifität bei Patienten, die auf die Therapie ansprechen (Responder):

	<u>Spezifität</u>	
	<u>tartrathemmbarer</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
Responder	95.1%	96.3%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Sensitivität bei Patienten, die auf die Therapie nicht ansprechen (Non-Responder):

	<u>Sensitivität</u>	
	<u>tartrathemmbarer</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
Non-Responder	55.3%	100%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Spezifität bei Patienten mit einem Prostataadenom:

	<u>Spezifität</u> <u>tartrathemmbarer</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
Patienten mit Prostataadenom	68.4%	85.71%

Im Vergleich beider Verfahren bestehen folgende Unterschiede bezüglich der Spezifität bei gesunden Probanden:

	<u>Spezifität</u> <u>tartrathemmbarer</u> <u>Phosphatase</u>	<u>EIA</u>
gesunde Probanden	95.3%	100%

Diese Ergebnisse zeigen deutlich, daß die tartrat-hemmbar Phosphatase als Tumormarker in der heutigen Tumordiagnostik und in der Verlaufskontrolle des Prostatakarzinoms keine Rolle mehr spielt.

Zeichenerklärung

AP:	alkalische Phosphatase
SP:	saure Phosphatase
tP:	tartrathemmbar Phosphatase
EIA:	Enzymimmunoassay
Sensitivität:	$\frac{\text{richtig positive Werte}}{\text{richtig positive Werte} + \text{falsch negative Werte}} \times 100$
Spezifität:	$\frac{\text{richtig negative Werte}}{\text{falsch positive Werte} + \text{richtig negative}} \times 100$
n:	Patienten- bzw. Probenanzahl
Xp:	Ergebnisse oberhalb des Normbereiches, d.h. $> 1.5 \text{ ng/ml}$
Xn:	Ergebnisse innerhalb des Normbereiches, d.h. $\leq 1.5 \text{ ng/ml}$
M:	Medianwert
90%:	90% Perzentile

T₁

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tP</u>	<u>EIA</u>
n: 30	n: 30	n: 28	n: 22
Xp: 5	Xp: 5	Xp: 1	Xp: 2
$\hat{a}$: 16.7%	$\hat{a}$: 16.7%	$\hat{a}$: 3.6%	$\hat{a}$: 9.1%
Xn: 25	Xn: 25	Xn: 27	Xn: 20
$\hat{a}$: 83.3%	$\hat{a}$: 83.3%	$\hat{a}$: 96.4%	$\hat{a}$: 90.9%

Sensitivität EIA: 9.1%

T₂

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tP</u>	<u>EIA</u>
n: 67	n: 72	n: 72	n: 37
Xp: 6	Xp: 14	Xp: 6	Xp: 16
$\hat{a}$: 8.9%	$\hat{a}$: 19.4%	$\hat{a}$: 8.3%	$\hat{a}$: 43.24%
Xn: 61	Xn: 58	Xn: 66	Xn: 21
$\hat{a}$: 91.1%	$\hat{a}$: 80.6%	$\hat{a}$: 91.7%	$\hat{a}$: 56.76%

Sensitivität EIA: 43.24%

T₃

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tP</u>	<u>EIA</u>
n: 88	n: 93	n: 88	n: 37
Xp: 25	Xp: 29	Xp: 13	Xp: 21
$\hat{=}$: 28.4%	$\hat{=}$: 31.2%	$\hat{=}$: 14.8%	$\hat{=}$: 56.76%
Xn: 63	Xn: 64	Xn: 75	Xn: 16
$\hat{=}$: 71.6%	$\hat{=}$: 68.8%	$\hat{=}$: 85.2%	$\hat{=}$: 43.24%

Sensitivität EIA: 56.76 %

T₄

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tP</u>	<u>EIA</u>
n: 66	n: 74	n: 72	n: 29
Xp: 33	Xp: 48	Xp: 29	Xp: 25
$\hat{=}$: 50%	$\hat{=}$: 64.9%	$\hat{=}$: 40.3%	$\hat{=}$: 86.21%
Xn: 33	Xn: 26	Xn: 43	Xn: 4
$\hat{=}$: 50%	$\hat{=}$: 35.1%	$\hat{=}$: 59.7%	$\hat{=}$: 13.79%

Sensitivität EIA: 86.21%

G₁

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tp</u>	<u>EIA</u>
n: 42	n: 42	n: 40	n: 25
Xp: 3	Xp: 6	Xp: 1	Xp: 6
$\hat{=}$: 7.1%	$\hat{=}$: 14.3%	$\hat{=}$: 2.5%	$\hat{=}$: 24.0%
Xn: 39	Xn: 36	Xn: 39	Xn: 19
$\hat{=}$: 92.9%	$\hat{=}$: 85.7%	$\hat{=}$: 97.5%	$\hat{=}$: 76.0%

Sensitivität EIA: 24.00% M : 0.75 ng/ml
90%P : 8.52 ng/ml oberer Wert
0.34 ng/ml unterer Wert

G₂

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tp</u>	<u>EIA</u>
n: 113	n: 121	n: 121	n: 51
Xp: 21	Xp: 36	Xp: 13	Xp: 23
$\hat{=}$: 18.6%	$\hat{=}$: 29.8%	$\hat{=}$: 10.7%	$\hat{=}$: 45.9%
Xn: 92	Xn: 85	Xn: 108	Xn: 28
$\hat{=}$: 81.4%	$\hat{=}$: 70.2%	$\hat{=}$: 89.3%	$\hat{=}$: 54.91%

Sensitivität EIA: 45.9% M : 1.0 ng/ml
90%P : 13.5 ng/ml oberer Wert
0.15 ng/ml unterer wert

G₃

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tP</u>	<u>EIA</u>
n: 103	n: 114	n: 106	n: 54
Xp: 47	Xp: 57	Xp: 35	Xp: 38
$\hat{=}$: 45.6%	$\hat{=}$: 50%	$\hat{=}$: 33%	$\hat{=}$: 70.37%
Xn: 56	Xn: 57	Xn: 71	Xn: 16
$\hat{=}$: 54.7%	$\hat{=}$: 50.0%	$\hat{=}$: 67.0%	$\hat{=}$: 29.23%

Sensitivität EIA: 70.37% M: 3.1 ng/ml
90%P: 100.53ng/ml oberer Wert
0.30ng/ml unterer Wert

Patienten mit Lymphknotenmetastasen

<u>AP</u>		<u>SP</u>		<u>tP</u>		<u>EIA</u>	
n:	67	n:	77	n:	75	n:	29
Xp:	21	Xp:	33	Xp:	17	Xp:	18
$\hat{\Delta}$:	31.3%	$\hat{\Delta}$:	42.9%	$\hat{\Delta}$:	22.7%	$\hat{\Delta}$:	62.07%
Xn:	46	Xn:	44	Xn:	58	Xn:	11
$\hat{\Delta}$:	68.7%	$\hat{\Delta}$:	57.1%	$\hat{\Delta}$:	77.3%	$\hat{\Delta}$:	37.93%

Sensitivität EIA: 62.07% M : 2.0 ng/ml
90%P : 64.27 ng/ml oberer Wert
0.24 ng/ml unterer Wert

Patienten ohne Lymphknotenmetastasen

<u>AP</u>		<u>SP</u>		<u>tP</u>		<u>EIA</u>	
n:	75	n:	75	n:	74	n:	32
Xp:	10	Xp:	11	Xp:	3	Xp:	2
$\hat{\Delta}$:	13.3%	$\hat{\Delta}$:	14.7%	$\hat{\Delta}$:	4.1%	$\hat{\Delta}$:	6.25%
Xn:	65	Xn:	64	Xn:	71	Xn:	30
$\hat{\Delta}$:	86.7%	$\hat{\Delta}$:	85.3%	$\hat{\Delta}$:	95.9%	$\hat{\Delta}$:	93.75%

Spezifität EIA: 93.75% M : 0.8 ng/ml
90%P : 4.01 ng/ml oberer Wert
0.40 ng/ml unterer Wert

Patienten mit Fern- und Lymph-
knotenmetastasen

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tp</u>	<u>EIA</u>
n: 25	n: 29	n: 28	n: 12
Xp: 19	Xp: 21	Xp: 13	Xp: 12
$\hat{=}$: 76.0%	$\hat{=}$: 72.41%	$\hat{=}$: 46.43%	$\hat{=}$: 100%
Xn: 6	Xn: 8	Xn: 15	Xn: 0
$\hat{=}$: 24.0%	$\hat{=}$: 27.59%	$\hat{=}$: 53.57%	$\hat{=}$: 0%

Sensitivität EIA: 100% M : 18.5 ng/ml
90%P : 368.5 ng/ml oberer Wert
1.6 ng/ml unterer Wert

Responder

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tP</u>	<u>EIA</u>
n: 173	n: 186	n: 182	n: 81
Xp: 23	Xp: 37	Xp: 9	Xp: 3
$\hat{=}$: 13.3%	$\hat{=}$: 19.9%	$\hat{=}$: 4.9%	$\hat{=}$: 3.70%
Xn: 150	Xn: 149	Xn: 173	Xn: 78
$\hat{=}$: 87.7%	$\hat{=}$: 80.1%	$\hat{=}$: 95.1%	$\hat{=}$: 96.3%

Spezifität EIA: 96.30% M : 0.7 ng/ml
90%P : 1.63 ng/ml oberer Wert
0.30 ng/ml unterer Wert

Non - Responder

<u>AP</u>	<u>SP</u>	<u>tP</u>	<u>EIA</u>
n: 35	n: 43	n: 38	n: 27
Xp: 23	Xp: 31	Xp: 21	Xp: 27
$\hat{=}$: 65.7%	$\hat{=}$: 72.1%	$\hat{=}$: 55.3%	$\hat{=}$: 100%
Xn: 12	Xn: 12	Xn: 17	Xn: 0
$\hat{=}$: 34.3%	$\hat{=}$: 27.9%	$\hat{=}$: 44.7%	$\hat{=}$: 0%

Sensitivität EIA: 100% M : 9.8 ng/ml
90%P : 92.10 ng/ml oberer Wert
1.60 ng/ml unterer Wert

Adenome

EIA

Spezifität EIA:

n:	70	<u>M</u> :	1.0 ng/ml
Xp:	10	<u>90%P</u> :	2.6 ng/ml
$\hat{\Delta}$:	14.29%		oberer Wert
Xn:	60		0.3 ng/ml
$\hat{\Delta}$:	85.71%		unterer Wert

gesunde Probanden

EIA

Spezifität EIA:

n:	58	<u>M</u> :	0.36 ng/ml
Xp:	0	<u>90%P</u> :	0.70 ng/ml
$\hat{\Delta}$:	0%		oberer Wert
Xn:	58		0.22 ng/ml
$\hat{\Delta}$:	100%		unterer Wert

B. DISKUSSION

Die Aufgabe dieser Arbeit besteht darin, die klinische Wertigkeit der prostata - spezifischen sauren Phosphatase in Diagnose und Verlaufskontrolle des Prostatakarzinoms zu untersuchen.

Die Frühdiagnose des Prostatakarzinoms durch die Einführung des Enzymimmunoassays Enzygnost^R - PSAP der Behringwerke wesentlich zu verbessern, und damit eine Screeningmethode für Anfangsstadien zu schaffen, ist leider nicht gelungen. Nur 2 von 22 Patienten mit dem Tumorstadium T₁ hatten erhöhte Serumwerte an prostata - spezifischer saurer Phosphatase, das sind 9.1 %. Ebenfalls hatten nur 16 von 37 Patienten mit dem Tumorstadium T₂ erhöhte Serumwerte an PSAP, das sind 43.24 %. Die Ergebnisse von FOTI und COOPER (1978), 50% der Patienten im Frühstadium des Prostatakarzinoms mit dem Enzymimmunoassay zu erfassen, konnten nicht nachvollzogen werden.

Für fortgeschrittene Stadien und geringe Differenzierungsgrade ist ein empfindlicher Indikator greifbar, der es ermöglicht, die betroffenen Patienten zu diagnostizieren. 25 von 29 Patienten mit dem Tumorstadium T₄

und 38 von 54 Patienten mit dem Differenzierungsgrad G₃ hatten erhöhte Serumwerte an prostata - spezifischer saurer Phosphatase, das sind 86.21 % bzw. 70.37 %.

Patienten mit Lymphknotenmetastasierung konnten zu 62.07 % diagnostiziert werden.

Waren Fern- und Lymphknotenmetastasen gleichzeitig vorhanden, hatten 100 % der betroffenen Patienten erhöhte Serumwerte.

Von 32 Patienten mit gesichertem Prostatakarzinom ohne erfolgte Lymphknotenmetastasierung hatten 2 erhöhte Serumwerte an prostata - spezifischer saurer Phosphatase.

Die vorliegenden Ergebnisse besagen, daß in diesen Fällen der Enzymimmunoassay ein wertvolles Hilfsmittel in der Diagnosesicherung des fortgeschrittenen Prostatakarzinoms ist.

Die Domäne des Enzymimmunoassays Enzygnost^R - PSAP ist jedoch die Verlaufskontrolle der Patienten mit Prostatakarzinom (siehe Abb.: 4.1, 4.2, 4.3 unter 3) Ergebnisse).

Gerade hier erkennt man die Möglichkeiten, die dieses Testkit aufweist. Bei 108 Patienten konnte eine Verlaufskontrolle nach Therapieeinleitung durchgeführt werden. Die Non - Responder (Therapieversager) konnten mit einer Sensitivität von 100% bestimmt werden, die Responder (Patienten, die auf die Therapie ansprechen) erkannte man mit einer Spezifität von 96.30%.

Bei einer Arbeit von FOTI et al. (1977) (24) über den Radioimmunoassay hatten 2 von 36 Patienten mit einem Prostataadenom erhöhte Serumwerte an prostata - spezifischer saurer Phosphatase. Das entspricht einer Spezifität von 94.4 %. In der vorliegenden Arbeit beträgt bei den Prostataadenomen die Spezifität 85.7%, das heißt, 10 von 70 Patienten dieser Gruppe hatten erhöhte Serumwerte.

Bei einer Vergleichsgruppe von 58 gesunden Probanden erzielte der Enzymimmunoassay Enzygnost^R - PSAP eine Spezifität von 100 %. FOTI et al. kam mit dem Radioimmunoassay 1977 (24) bei 50 gesunden Probanden ebenfalls auf eine Spezifität von 100 %.

Etliche Arbeiten über die Aussagekraft des Enzymimmunoassays bei Patienten mit Prostatakarzinom bleiben bezüglich der Verlaufskontrolle den Beweis schuldig. Das liegt zum Teil an einer geringen und damit nicht signifikanten Patientenanzahl, an dem Nichtgelingen, die Patienten über längere Zeiträume hinweg regelmäßig einzubestellen, an den Kosten der Untersuchungsverfahren usw..

Diese Arbeit kann anhand von 108 Patienten, die über mehrere Jahre hinweg einer Verlaufskontrolle unterzogen wurden, den Beweis antreten.

Wenn man sich nocheinmal die Vorteile des Enzymimmunoassays gegenüber dem Radioimmunoassay vor Augen führt (siehe Abb.: 3 unter 2) Methodik), erkennt man eindeutig, daß dieses Verfahren bei der Verlaufskontrolle und somit auch bei der Therapie des Prostatakarzinoms heutzutage nicht mehr wegzudenken ist.

Gerade diese Vorteile ermöglichen auch dem niedergelassenen Urologen oder Praktiker die Betreuung der Prostatakarzinom - Patienten zu übernehmen. Dem Arzt gelingt es auf diese Weise, Rezidive oder das Nicht-

ansprechen auf den erstellten Therapieplan rechtzeitig zu erkennen, und somit die richtigen Schritte einzuleiten. Dem Patienten wird die Möglichkeit gegeben, besser mit dem Prostatakarzinom fertigzuwerden, indem er in angemessener Zeit der geeigneten Behandlung zugeführt wird.

C. ZUSAMMENFASSUNG

Heutzutage ist die saure Phosphatase der am häufigsten herangezogene Tumormarker im Rahmen der Diagnose und Verlaufskontrolle des Prostatakarzinoms.

Das Isoenzym Nr. 2 der 5 Isoenzyme der sauren Phosphatase wird überwiegend in der Prostata synthetisiert und wird prostata - spezifische saure Phosphatase, PSAP, (PSAP= prostate specific acid phosphatase) genannt.

Die PSAP besitzt charakteristische Antigeneigenschaften. Sie kann durch Immundiffusion, Counterimmunelektrophorese, Radioimmunoassay (RIA), Enzymimmunoassay (EIA) und Fluoreszenzimmunoassay (FIA) dargestellt werden.

Mit dem EIA Enzygnost^R - PSAP der Behringwerke wurden von 225 Patienten insgesamt 1252 Serumproben untersucht. 155 Patienten hatten ein gesichertes Prostatakarzinom, 70 Patienten hatten ein Prostataadenom. Bei 108 Patienten konnte eine Verlaufskontrolle durchgeführt werden. Im Rahmen der Diagnostik wurde die Untersuchung bei 47 Patienten durchgeführt. Ferner wurde die PSAP

bei einer Kontrollgruppe von 58 Probanden bestimmt. Ein Vergleich zwischen Serum- und Plasmawerten wurde anhand von 13 Proben durchgeführt.

Die Sensitivität des EIA Enzygnost^R - PSAP betrug 9.10 % bei dem Tumorstadium T₁, 43.24 % bei dem Stadium T₂, 56.76 % bei dem Stadium T₃ und 86.21 % bei dem Stadium T₄. Bei dem Differenzierungsgrad G₁ betrug die Sensitivität 24.00 %, bei Grad G₂ 45.09 % und bei Grad G₃ 70.37 %. Bei vorhandenen Lymphknotenmetastasen erreichte das Testkit eine Sensitivität von 62.07 %. Patienten ohne Lymphknotenbefall konnten mit einer Spezifität von 93.75 % ermittelt werden. Eine Sensitivität von 100 % erzielte das EIA bei Patienten mit Lymphknoten- plus Fernmetastasen.

Was die Verlaufskontrolle anbelangt, konnten die Therapieversager (Non - Responder) klar von den Patienten getrennt werden, die gut auf die Therapie ansprachen (Responder). Bei den Respondern betrug die Spezifität 96.30 %, bei den Non - Respondern die Sensitivität 100 %.

Bei den Prostataadenomen hatten nur 14.29 % der Patienten erhöhte PSAP - Serumwerte. Die Serumproben der 58 gesunden Probanden lägen alle im Normbereich.

In der Frühdiagnose des Prostatakarzinoms weist dieses Verfahren sicherlich noch einige Mängel auf. Bei fortgeschrittenem Tumor ist dieses EIA für den behandelnden Arzt eine große Hilfe. Die Domäne liegt jedoch in der Verlaufskontrolle. Der Patient kann nach erfolgter stationärer Therapie wieder seinem gewohnten Tagesablauf nachgehen und bei seinem Hausarzt einen bestimmten Kontrollplan befolgen. Ein Versagen der Therapie oder ein Rezidiv kann schnell erkannt werden, so daß der Patient zur Änderung des Therapieschemas wieder in ein Krankenhaus überwiesen werden kann.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Lehrmeister auf dem Gebiet der Urologie und Direktor der Urologischen Klinik und Poliklinik der Universität München am Klinikum Großhadern Herrn Prof. Dr. E. Schmiedt.

Meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Staehler bin ich zu großem Dank verpflichtet für das Entgegenkommen und die Unterstützung bei meiner Arbeit.

Herrn Prof. Dr. H.-W. Bauer danke ich für die Zuweisung des Themas meiner Doktorarbeit und für die Tatsache, daß die Testserien meiner Arbeit an dem Labor, das unter seiner Leitung stand, durchgeführt wurden.

Bei dieser Gelegenheit möchte ich mich auch bei Frau Uschi Schikora und Frau Birgit Erdle bedanken, die mir bei der Erstellung der Versuchsserien sehr behilflich waren.

D. LITERATURVERZEICHNIS

1. ABLIN, R.J.:
Prostate-Specific-Acid-Phosphatase,
Clinical Chemistry, Vol. 26, No. 11, 1632 (1980)
2. ABLIN, R.J.:
Serum Antibody in Patients with Prostatic Cancer,
British Journal of Urology, 48, 355 (1976)
3. ALTWEIN, J.E., JACOBI, G.H.:
Hormontherapie des Prostatakarzinoms,
Urologe A, 19, 350 (1980)
4. BANDAUEER, K.:
Histological Grading of Prostatic Carcinoma and its
Clinical Evaluation,
Eur. Urol., 5, 225, (1979)
5. BAUER, H.-W., GÖTTINGER, H., GRENNER, G., DATI, F.:
Erster Enzymimmunoassay für die prostataspezifische
saure Phosphatase,
Tumor Diagnostik, 2, 44 (1981)
6. BAUER, H.-W., GÖTTINGER, H., GRENNER, G., DATI, F.:
Enzyme Immuno Assay for the Prostate Specific-Acid-
Phosphatase,
Urological Research, 9, 21 (1981)
7. BAUER, H.-W., WALTHER, V., SCHMIEDT, E.:
Bestimmung der sauren Phosphatase beim Prostatakarzinom,
Fortschritte der Medizin, Jg. 98, Nr. 34, 1301 (1980)
8. BAUER, H.-W., GÖTTINGER, H., GRENNER, G.:
Ein Enzymimmunoassay zum Nachweis von prostataspezifischer
saurer Phosphatase (PSAP) beim Prostatakarzinom,
Verhandlungsbericht der Deutschen Gesellschaft für
Urologie, 31. Tagung, 470 (1979)
9. Behringwerke AG., Diagnostika - Forschung,
Beschreibung des Enzygnost^R - PSAP

10. BELVILLE, W.D., COX, H.D., MAHAN, D.E., STUTZMAN, R.E.,
BRUCE, A.W.:
Prostatic-Acid-Phosphatase by RIA,
Tumor Marker in Bone Marrow,
The Journal of Urology, Vol. 121 (1979)
11. BITTAR, E.E., BITTAR, N.:
The Biological Basis of Medicine,
Academic Press, Vol. 1 (1969)
12. BRUCE, A.W., MAHAN, D.E., MORALES, A., CLARK, A.F.,
BELVILLE, W.D.:
An Objective Look at Acid-Phosphatase Determinations,
British Journal of Urology, 51, 213 (1979)
13. BRUCE, A.W., O'CLEIREACHAIN, F., MORALES, A., AWAD, S.S.
Carcinoma of the Prostate: A Critical Look at Staging,
The Journal of Urology, Vol. 117, 319 (1977)
14. CATALONA, W.J.:
Immunobiology of Carcinoma of the Prostate,
Investigative Urology, Vol. 17, No. 5, 373 (1980)
15. CHIN-YANG LI, M.D., LAM, W.K.W., YAM, L.T.:
Immunohistochemical Diagnosis of Prostatic Cancer
with Metastasis,
Cancer 46, 706 (1980)
16. CHOE, B.K., PONTES, E.J., DANG, M.K., ROSE, N.R.:
Double-Antibody Immunoenzyme Assay for Human
Prostatic Acid Phosphatase,
Clinical Chemistry, Vol. 26, No. 13, 1854 (1980)
17. CHU, T.M., WANG, M.C., SCOTT, W.W., GIBBONS, R.P.,
JOHNSON, D.E., SCHMIDT, J.D., LOENING, S.A., PROUT, G.R.,
MURPHY, G.P.:
Immunochemical Detection of Serum Prostatic-Acid-
Phosphatase, Investigative Urology, Vol. 15, Nr. 4 (1978)
18. MC CULLOUGH, D.L., PROUT, G.R., DALI, J.J.:
Carcinoma of the Prostate and Lymphatic Metastases,
Journal of Urology, Vol. 111, Jan., 65 (1974)

19. O'DONOGHUE, E.P.N., PUGH, R.C.P.:
Early Diagnosis of Prostatic Carcinoma: The Role
of Transurethral Resection,
British Journal of Urology, 49, 705 (1977)
20. DASS, S., BOWEN, N.L., BAGSHAW, K.D.:
Rapid Fully Automated Radioimmunoassay of Prostatic
Acid Phosphatase in Serum,
Clinical Chemistry, 26/11, 1583 (1980)
21. DONOHUE, R.E., FAUVER, H.E., WHITESEL, J.A.,
PFISTER, R.R.:
Staging Prostatic Cancer: A Different Distribution,
The Journal of Urology, Vol. 122, 327 (1979)
22. FISCHER, D.R., GEVERS, W.:
Altered Distribution of Acid-Phosphatase in
Neoplastic Prostatic Cells,
Urological Research, 8, 15 (1980)
23. FOSSA, S.D., SOKOLOWSKI, J., THEODORSEN, L.:
The Significance of Bone Marrow Acid-Phosphatase in
Patients with Prostatic Carcinoma,
British Journal of Urology, 50, 185 (1978)
24. FOTI, A.G., et al.:
Detection of Prostatic Cancer by Solid-Phase
Radioimmunoassay of Serum Prostatic-Acid-Phosphatase,
New English Journal of Medicine, 297, 1357 (1977)
25. FOTI, A.G., HERSCHMAN, H., COOPER, J.F.:
A Solidphase Radioimmunoassay for Human Prostatic-
Acid-Phosphatase,
Cancer Research, 35, 2446-2452 (1975)
26. FRITJOFSON, A., NORLEN, B.J., HÖGBERG, B., RAJALAKSHMI, M.,
CEKAN, S.Z., DISZFALUSY, E.:
Hormonal Effect of Different Doses of Estramucine
Phosphatase (Estracyt^R) in Patients with Prostatic
Carcinoma,
Scandinavian Journal of Urology and Nephrology, 15, 37 (1981)
27. GLEASON, D.F., MELLINGER, G.T.:
Prediction of Prognosis for Prostatic Adenocarcinoma
by Combined Histological Grading and Clinical Staging,
Journal of Urology, Vol. 11, 58 (1974)

28. MC GREGOR, B., TULLOCH, A.G.S., QUINLAN, M.F.,
LOVEGROVE, F.:
The Role of Bone Scanning in the Assessment of
Prostatic Carcinoma,
British Journal of Urology, 50, 178 (1978)
29. GRIFFITS, J.C.:
Prostate-Specific-Acid-Phosphatase:
Re-Evaluation of Radioimmunoassay in Diagnosing,
Prostatic Disease,
Clinical Chemistry, 26/3, 433 (1980)
30. HENGST, W., FISCHER, M., SPARWASSER, H.:
Die Wertigkeit des PAP-RIA für die Diagnostik des
Prostatakarzinoms,
Tumor-Diagnostik 4, 197 (1980)
31. HENNEBERRY, M.O., ENGEL, G., GRAYHACK, J.T.:
Acid Phosphatase,
Urologic Clinics of North America, Vol. 6, Nr. 3 (1979)
32. HOMBURGER, H.A., MILLER, S.A., JACOB, G.L.:
Radioimmunoassay of Creatine Kinase B-Isoenzymes
in Serum of Patients with Azothemia, Obstructive
Uropathy, or Carcinoma of the Prostate or Bladder,
Clinical Chemistry, Vol. 26, Nr. 13 (1980)
33. JACOBI, G.H.:
Labordiagnostische Möglichkeiten beim Prostatakarzinom,
Urologe A, 18, 311 (1979)
34. JACOBI, G.H.:
Immunologische Phosphatasebestimmung beim Prostata-
karzinom,
Aktuelle Urologie, 12, 243 (1981)
35. JOHNSON, C.D., COSTA, D., CASTRO, J.E.:
Acid-Phosphatase after the Examination of the Prostate,
British Journal of Urology, 51, 218 (1979)
36. JASEPHSON, L., HOULE, P.:
Stability of Prostatic Phosphatase in Normal Human Serum,
Clinical Chemistry, Vol. 26, Nr. 11 (1980)

37. KASTENDIECK, H.:
Correlation between Atypical Primary Hyperplasia
and Carcinoma of the Prostate - a Histological
Study of 180 total Prostatectomies,
Path. Research. Pract. Vol. 169, 366 (1979)
38. KHAN, A.N., LEE, G.S., JACKETT, D.M.R., NEWCOMBE, R.G.,
PATHY, M.S.:
The Effect of Routine Digital Examination of the
Prostate on Serum Acid-Phosphatase,
British Journal of Urology, 50, 182 (1978)
39. KIESLING, V.J., WATSON, R.A.:
A Closer Look at Serum Prostatic-Acid-Phosphatase
as Screening Test,
Urology, Vol. XVI, Nr. 3 (1980)
40. KISBENEDEK, L., PAJOR, L., BALOGH, F.:
Wertigkeit des rektalen Tastbefundes bei der
Diagnostik des Prostatakarzinoms,
Urologe A, 19, 324 (1980)
41. LAM, W.K.W., YAM, L.T., WILBUR, H.J., TAFT, E.,
LI, C.Y.:
Comparison of Acid-Phosphatase Isoenzymes of Human
Seminal Fluid, Prostate and Leukocytes,
Clinical Chemistry, 25/7, 1285 (1979)
42. LINDHOLM, G.R., SCOTT STIRTON, M., LIEDTKE, R.J.,
BATJER, J.D.:
Prostatic-Acid-Phosphatase by RIA: Sensivity
compared with EIA,
JAMA, Nov. 7, Vol. 244, 2071 (1980)
43. MEYHOFF, H.H., INGEMANN, L., NORDLING, J., HALD, T.:
Accuracy in Preoperative Estimation of Prostatic
Size,
Scandinavian Journal of Urology and Nephrology, 15, 45 (1981)
44. SHAW, L.M., YANG, N., BROOKS, J.J., NEAT, M., MARSH, E.,
SEAMONDS, B.:
Immunochemical Evaluation of the Organ Specificity
of Prostatic-Acid-Phosphatase,
Clinical Chemistry, 27/9, 1505 (1981)
45. TANER, P.G., CARR, K.E.:
Cell Structure, Sekond Edition, Churchill Livingston,
Edinburgh & London (1971)

46. VIHKO, P., LUKKARINEN, O., KONTURRI, M., VIHKO, R.,:
The Effect of Manipulation of the Prostatic Gland
on Serum Prostate-Specific-Acid Phosphatase measured
by RIA,
Investigative Urology, Vol. 18, Nr. 5, 334 (1981)
47. VOGT, W.:
EIA - RIA, Alternative oder Ergänzung,
Enzymimmunoassay, Thieme Verlag Stuttgart (1979)
48. VOGT, W.:
Prinzip des heterogenen Enzymimmunoassays
(EIA oder Elisa),
Enzymimmunoassay, Thieme Verlag Stuttgart (1979)
49. WATSON, R.A., TANG, D.B.:
The Predictive Value of Prostatic-Acid-Phosphatase
as a Screening Test for Prostatic Cancer,
The New English Journal of Medicine, Vol. 303, Nr. 9
497 (1980)
50. WITHMORE, W.F.:
The Natural History of Prostatic Cancer,
Cancer, Vol. 32 (1973)
51. WOLFE, J.H.N., LLOYD-DAVIS, R.W.:
The Management of Traditional Cell Carcinoma
in the Prostate,
British Journal of Urology, 53, 253 (1981)

L e b e n s l a u f

Name: Marcus Obenaus, geboren am 23. Oktober 1956
in Johannesburg/Südafrika.

Eltern: Dr.-Ing. Werner Obenaus,
Carol Obenaus, geb. Prinz.

Schule: Im März 1963 Einschulung in die "Deutsche
Schule Alexander von Humboldt" in Mexico/City.
Besuch der Schule bis zum ersten Halbjahr
des dritten Schuljahres.

Besuch der "Rote - Tor - Schule" in
Augsburg bis Ende des vierten Schuljahres.

Besuch des "Colegio Alemán de Santiago" in
Santiago/Chile bis Ende der Klasse II
(Klasse II entspricht der 10. Klasse
in Deutschland).

Im Juni 1976 Erwerb der Allgemeinen Hoch-
schulreife am mathematisch - naturwissen-
schaftlichen Zweig des "Gymnasium Königsbrunn"
bei Augsburg.

Wehrdienst: Juli 1976 bis September 1977 beim Gebirgs -
Sanitäts - Bataillon 8 in Murnau am
Staffelsee.

Studium: Seit Wintersemester 1977/78 Studium der
Humanmedizin an der "Ludwig - Maximilians
Universität" in München.

Doktorarbeit: "Klinische Wertigkeit der prostata -
spezifischen sauren Phosphatase im Hinblick
auf Diagnose und Verlaufskontrolle des
Prostatakarzinoms". Arbeit an der Urolo-
gischen Klinik und Poliklinik der Uni-
versität München am Klinikum Großhadern.
Direktor: Prof. Dr. E. Schmiedt.

Praktisches- Oktober 1983 bis Januar 1984 an der
Jahr: II. Chirurgischen Abteilung des Städt.
Krankenhauses München - Schwabing.
Direktor: Dr. Pronnet.

Februar 1984 bis Mai 1984 an der
Urologischen Klinik und Poliklinik der
Universität München am Klinikum
Großhadern.
Direktor: Prof. Dr. E. Schmiedt.

Juni 1984 bis September 1984 an der
II. Medizinischen Abteilung des Städt.
Krankenhauses Neuperlach.
Direktor: Prof. Dr. L. Henselmann.

Abschluß: Studium am 16. Oktober 1984 mit
Bestehen des Examens beendet.

Approbation: Approbation am 19. Oktober 1984
erhalten.

